

**UNIVERSIDADE FEDERAL DE SERGIPE
CENTRO DE CIÊNCIAS BIOLÓGICAS E DA SAÚDE
DEPARTAMENTO DE FARMÁCIA
MONOGRAFIA II**

ROSANE RAMOS CONCEIÇÃO

**AVALIAÇÃO DA INCORPORAÇÃO DE CARREADORES
LIPÍDICOS NANOESTRUTURADOS (CLNs) CONTENDO
HIDROXIAPATITA EM FORMULAÇÃO CREME**

**SÃO CRISTÓVÃO/SE
2014**

ROSANE RAMOS CONCEIÇÃO

**AVALIAÇÃO DA INCORPORAÇÃO DE CARREADORES
LIPÍDICOS NANOESTRUTURADOS (CLNs) CONTENDO
HIDROXIAPATITA EM FORMULAÇÃO CREME**

Monografia apresentada ao curso de graduação em Farmácia da Universidade Federal de Sergipe, como requisito à obtenção ao título de **Bacharel em Farmácia** à Disciplina de Monografia II.

Orientadora: Prof.^a Dr.^a Rogéria de Souza Nunes

SÃO CRISTÓVÃO-SE
2014



Normas da Revista Brasileira de Ciências Farmacêuticas

1. Estrutura dos originais

1.1. Cabeçalho: constituído por:

- Título do trabalho: deve ser breve e indicativo da exata finalidade do trabalho.

- Autor(es) por extenso, indicando a(s) instituição(ões) a(s) qual(is) pertence(m) mediante números. O autor para correspondência deve ser identificado com asterisco, fornecendo o endereço completo, incluindo o eletrónico. Estas informações devem constar em notas de rodapé.

1.2 Resumo (em português): deve apresentar a condensação do conteúdo, expondo metodologia, resultados e conclusões, não excedendo 200 palavras. Os membros da Comissão poderão auxiliar autores que não são fluentes em português.

1.3 Unitermos: devem representar o conteúdo do artigo, evitando-se os de natureza genérica e observando o limite máximo de 6(seis) unitermos.

1.4 Introdução: deve estabelecer com clareza o objetivo do trabalho e sua relação com outros trabalhos no mesmo campo. Extensas revisões de literatura devem ser substituídas por referências aos trabalhos bibliográficos mais recentes, onde tais revisões tenham sido apresentadas.

1.5 Material e Métodos: a descrição dos métodos usados deve ser breve, porém suficientemente clara para possibilitar a perfeita compreensão e repetição do trabalho. Processos e Técnicas já publicados, a menos que tenham sido extensamente modificados, devem ser apenas referidos por citação. Estudos em humanos devem fazer referência à aprovação do Comitê de Ética correspondente.

1.6 Resultados e Discussão: deverão ser acompanhados de tabelas e material ilustrativo adequado, devendo se restringir ao significado dos dados obtidos e resultados alcançados. É facultativa a apresentação desses itens em separado.

1.7 Conclusões: Quando pertinentes, devem ser fundamentadas no texto.

1.8 Resumo em inglês (ABSTRACT): deve acompanhar o conteúdo do resumo em português.

1.9 Unitermos em inglês: devem acompanhar os unitermos em português.

1.10 Agradecimentos: devem constar de parágrafos, à parte, antecedendo as referências bibliográficas.

1.11 Referências: devem ser organizadas de acordo com as normas da ABNT NBR-6023, ordenadas alfabeticamente no fim do artigo incluindo os nomes de todos os autores.

A exatidão das referências é de responsabilidade dos autores.

2. Apresentação dos originais

Os trabalhos devem ser apresentados em lauda padrão (de 30 a 36 linhas com espaço duplo). Utilizar Programa Word for Windows. Os autores devem encaminhar o trabalho acompanhado de carta assinada pelo autor de correspondência, que se responsabilizará pela transferência dos direitos à RBCF.

3. Informações adicionais

3.1 Citação bibliográfica: As citações bibliográficas devem ser apresentadas no texto pelo(s) nome(s) do(s) autor(es), com apenas a inicial em maiúsculo e seguida do ano de publicação. No caso de haver mais de três autores, citar o primeiro e acrescentar a expressão et al. (*em itálico*)

3.2 Ilustrações: As ilustrações (gráficos, tabelas, fórmulas químicas, equações, mapas, figuras, fotografias, etc) devem ser incluídas no texto, o mais próximo possível das respectivas citações. Mapas, figuras e fotografias devem ser, também, apresentados em arquivos separados e reproduzidas em alta resolução(800 dpi/bitmap para traços) com extensão tif. e/ou bmp. No caso de não ser possível a entrega do arquivo eletrónico das figuras, os originais devem ser enviados em papel vegetal ou impressora a laser.

Ilustrações coloridas somente serão publicadas mediante pagamento pelos autores.

As tabelas devem ser numeradas consecutivamente em algarismos romanos e as figuras em algarismos arábicos, seguidos do título. As palavras TABELA e FIGURA devem aparecer em maiúsculas na apresentação no texto e na citação com apenas a inicial em maiúsculo.

3.3 Nomenclatura: pesos, medidas, nomes de plantas, animais e substâncias químicas devem estar de acordo com as regras internacionais de nomenclatura. A grafia dos nomes de fármacos deve seguir, no caso de artigos nacionais, as Denominações Comuns Brasileiras (DCB) em vigor, podendo ser mencionados uma vez (entre parênteses, com inicial maiúscula) os registrados.

AVALIAÇÃO DA INCORPORAÇÃO DE CARREADORES LIPÍDICOS NANOESTRUTURADOS (CLNs) CONTENDO HIDROXIAPATITA EM FORMULAÇÃO CREME

Rosane Ramos Conceição^{1,*}, Aline Dantas Lima¹, Rogéria de Souza Nunes¹

¹*Departamento de Farmácia - Universidade Federal de Sergipe*

RESUMO

O objetivo deste trabalho foi avaliar a incorporação de carreadores lipídicos nanoestruturados contendo hidroxiapatita em formulação creme. Foram obtidas três formulações (F1- creme inerte; F2- creme + nanocarreador; F3- creme + nanocarreador + hidroxiapatita). Sendo avaliada a estabilidade física do creme, reologia, espalhabilidade, efeito oclusivo e interação com modelo de estrato córneo por DSC. Os resultados de estabilidade indicaram que as formulações estudadas mantiveram-se estáveis nas condições avaliadas. As formulações F1, F2 e F3 apresentaram-se comportamentos reológicos de fluidos não newtonianos com fluxo pseudoplástico, e o índice de fluxo (n) de $0,2083 \pm 0,0001$, $0,20270 \pm 0,0001$, $0,20521 \pm 0,0001$, respectivamente, característica desejável em formulações para aplicação na pele. Para a espalhabilidade, não foi observada diferença significativa ($p < 0,005$) entre as formulações F2 e F3, no entanto, quando comparadas com F1, observou-se diferença significativa ($p > 0,005$). O teste de oclusão indicou que as formulações F2 e F3 apresentaram aumento no efeito oclusivo quando comparadas à F1. As medidas de DSC indicaram que as amostras de estrato córneo tratadas com F2 e F3 apresentaram maior valor de ΔH , sugerindo maior retenção de água e um provável efeito hidratante. Estes resultados podem apresentar o carreador lipídico nanoestruturado contendo a hidroxiapatita como um veículo promissor para formulações cosméticas de proteção solar.

Unitermos: *Carreador lipídico nanoestruturado (CLN), fotoproteção, creme à base de óleo de babaçu (*Orbignya oleifera*), Hidroxiapatita (HAP).*

ABSTRACT

The objective of this study was to evaluate the incorporation of nanostructured lipid carriers containing hydroxyapatite into cream formulation. Three formulations were obtained (F1- inert cream; F2- cream + nanocarrier; F3- cream + nanocarrier + hydroxyapatite). The physical stability of the cream, rheology, spreadability, occlusive effect and interaction with the stratum corneum model by DSC were evaluated. The stability results indicated that the studied formulations remained stable under the evaluated conditions. The formulations F1, F2 and F3 showed to be rheological behavior of non-Newtonian fluids with pseudoplastic flow and the flow index (n) of 0.20830 ± 0.0001 , 0.20270 ± 0.0001 , 0.20521 ± 0.0001 , respectively,

* Autor correspondente. Departamento de Farmácia - Universidade Federal de Sergipe, Endereço: Av. Marechal Rondon, s/n, Cidade Universitária, 49100-000, São Cristóvão, Sergipe, Brasil. E-mail: rosaneramos0708@gmail.com.

desirable characteristic in formulations for application in the skin. For the spreadability, it was not noted any significant difference ($p < 0.005$) between F2 and F3 formulations, however, when compared to F1, it was noted a significant difference ($p > 0.005$). The occlusion test indicated that F2 and F3 formulation showed an increase in occlusive effect when compared to F1. DSC measurements indicated that the samples of stratum corneum treated with F2 and F3 showed the highest value of ΔH , suggesting greater water retention and a potential moisturizing effect. These results can present nanostructured lipid carrier containing the hydroxyapatite as a promising vehicle for cosmetic formulations of sun protection.

Uniterms: *nanostructured lipid carrier (NLC), sunscreen, cream based on babassu oil (Orbignya oleifera), hydroxyapatite (HAP).*

1 INTRODUÇÃO

A moderada exposição ao sol pode trazer benefícios ao ser humano, como sensação de bem-estar físico e mental, estímulo à produção de melanina e de vitamina D, dentre outros. Porém, a exposição excessiva à radiação ultravioleta (UV) pode levar à ocorrência de comportamentos anormais das células, o que vem ocorrendo com bastante frequência nos últimos anos (Ambroggi *et al.*, 2007; Serpone *et al.*, 2007; Andreassi, 2011; Nikolic *et al.*, 2011; Balogh *et al.*, 2011; Lorca, 2012; Silva, 2013; Oliveira, 2013).

A exposição excessiva da pele humana à radiação ultravioleta (UV) do sol é um importante fator de risco para o desenvolvimento de câncer da pele. O Instituto Nacional do Câncer (INCA), no ano de 2014, registrou 182.130 novos casos de câncer da pele, correspondendo a 95% do total dos novos casos de neoplasias malignas no país (INCA, 2014). Além da grande magnitude do problema, existem evidências de tendências quanto ao aumento da morbidade e mortalidade por câncer da pele, o que impõe sua consideração como problema de saúde pública, mas de controle factível pela prevenção através do uso de filtros solares (Larentes, 2009; Salvio, 2011; Oliveira, 2013; Aguiar *et al.*, 2013).

Os filtros solares são substâncias capazes de absorver, refletir ou dispersar a energia eletromagnética na faixa da radiação proveniente UV/VIS. Neste sentido, as substâncias

utilizadas como filtros solares são classificadas de acordo com sua natureza em: filtros orgânicos, que atuam absorvendo a radiação UV; e filtros inorgânicos, tais como dióxido de titânio e óxido de zinco, que atuam refletindo a radiação UV. Os filtros de natureza inorgânica se destacam por apresentarem segurança, baixo potencial de irritação e de sensibilidade cutânea. Estes filtros são constituídos de partículas inorgânicas também denominadas de pigmentos inorgânicos, sendo o tamanho destas de extrema importância não apenas para a eficácia do protetor solar, mas, também, para a aparência do produto cosmético (Silva, 2009; Tolotti, 2012; Lopes *et al.*, 2012). Neste contexto, os filtros solares inorgânicos podem evitar a penetração da radiação na pele e, conseqüentemente, evitar danos à saúde causados pela exposição à radiação UV, podendo ser sugerido na prevenção do câncer da pele (Forestier, 2008; Polonini *et al.*, 2011; Shi *et al.*, 2012; Lorca, 2012; Manaia, 2012).

A Hidroxiapatita (HAP) apresenta em sua estrutura molecular dois sítios de cálcio Ca_1 e Ca_2 (Figura 1). Esta configuração estrutural permite a possibilidade da substituição de um átomo de cálcio por metais. A substituição do cálcio pelo íon Cr^{3+} se destaca devido a sua atividade de absorção óptica na região da radiação UV (Araújo *et al.*, 2007; Araújo, 2008; Souza, 2008; Costa *et al.*, 2009; Batista, 2010; Lima, 2012). Sendo assim, a hidroxiapatita dopada com Cr^{3+} pode ser sugerida como um promissor candidato para desempenhar a função de filtro solar de natureza inorgânica, uma vez que o Cr^{3+} apresenta baixa toxicidade e deve-se, em parte, à dificuldade de penetração celular, pois seus compostos formam complexos octaédricos (HAP-Cr^{3+}), que, por apresentarem baixa lipossolubilidade, não penetram facilmente através da membrana celular. Portanto, os efeitos tóxicos do Cr^{3+} são pouco prováveis (Lima, 2010).

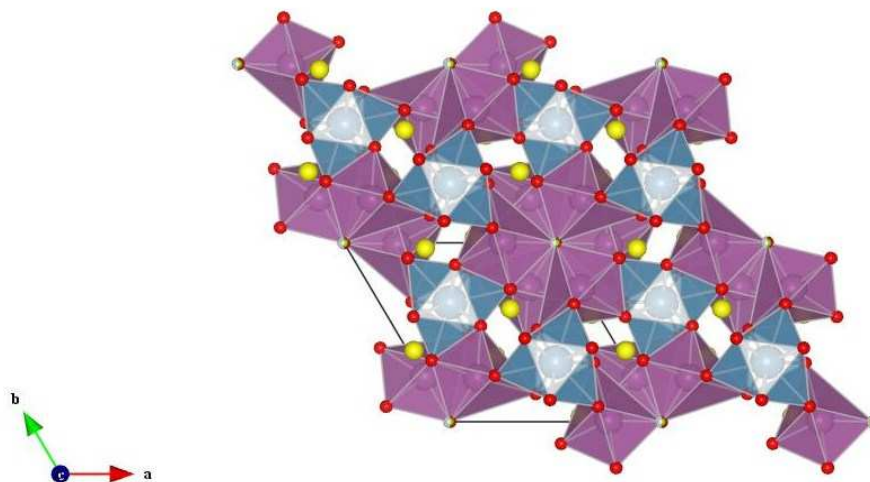


FIGURA 1: Cella unitária da hidroxiapatita, destacando os sítios de Ca_1 em azul, Ca_2 em roxo e átomos de fósforo em amarelo, oxigênio em vermelho e hidrogênio em verde.

Fonte: Lima, 2010, p. 17.

Os filtros solares de natureza inorgânica apresentam algumas limitações quando se trata de incorporá-los em formulações cosméticas semissólidas, principalmente, no que se refere à tendência de agregação das partículas inorgânicas no meio, assim como a formação de uma película opaca na superfície da pele após a aplicação (Lima, 2010; Balogh *et al.*, 2011; Tolotti, 2012; Lima, 2012). Villalobos-Hernández & C.C. Muller-Goymann (2005) apresentaram a utilização de carreadores lipídicos nanoestruturados compostos por uma mistura binária entre a cera de carnaúba e o oleato de decila, para dispersão de compostos inorgânicos (sulfato de bário, carbonato de estrôncio e dióxido de titânio) com ação fotoprotetora, em meio aquoso, observando que o aumento significativo do efeito fotoprotetor está associado ao efeito promovido pelo pigmento inorgânico somado ao efeito fotoprotetor atribuído ao nanocarreador. A HAP-Cr^{3+} possui uma baixa lipossolubilidade, o que se justifica a necessidade de modificação da superfície destas partículas com o objetivo de melhorar as características de produtos para fotoproteção.

Desta forma, Lima (2012) realizou a modificação da superfície da HAP-Cr^{3+} utilizando ácido esteárico e propôs a incorporação desta em carreadores lipídicos nanoestruturados com

dimensão entre 83,12 a 170,00 nm, a exemplo de sugestão para ação como filtro solar. Uma atenção especial foi dada ao tamanho dos carreadores lipídicos nanoestruturados, considerando que o tamanho de partícula não pode ser da mesma ordem de grandeza do comprimento de onda da faixa da radiação visível, assim, as partículas devem ser menores que 400 nm (Lima, 2012). Sendo cumprida esta especificação quanto ao tamanho médio dos carreadores lipídicos, a possibilidade de ocorrência da formação de uma película branca, característica comum dos filtros inorgânicos, é minimizada (Lima, 2010; Tolotti, 2012; Lima, 2012).

Quando se trata dos sistemas para veiculação de fotoprotetores inorgânicos, as formulações emulsionadas do tipo creme constituem-se como os veículos mais utilizados. Este sistema é formado por duas fases líquidas imiscíveis entre si, uma fase oleosa e outra fase aquosa em que uma das fases está totalmente dispersa como gotículas na outra fase pela ação de agentes emulsionantes (Egito *et al.*, 2009; Apolinário, 2011). No entanto, a dificuldade de dispersão dessas partículas inorgânicas, quando veiculadas em formulações emulsionadas do tipo creme, tem comprometido a estabilidade física do sistema. De forma geral, a encapsulação de compostos inorgânicos, com ação fotoprotetora, em nanocarreadores lipídicos, melhora a dispersão desses pigmentos nestes sistemas, favorecendo a formação de um filme homogêneo sobre a pele, além de favorecer o aumento do fator de proteção solar (FPS) e propriedades oclusivas (Rossan, 2011; Santos, 2011).

Desta forma, o objetivo deste trabalho foi avaliar a incorporação de carreadores lipídicos nanoestruturados (CLNs) contendo Hidroxiapatita em formulação creme.

2 MATERIAIS E MÉTODOS

2.1 Preparação dos Carreadores Lipídicos Nanoestruturados (CLNs)

Os carreadores lipídicos nanoestruturados foram obtidos pelo método de difusão do solvente (Hu *et al.*, 2002). Uma pré-emulsão foi preparada a partir da mistura lipídica de 240 mg entre lipídeo líquido (ácido oléico, AO), lipídeo sólido (ácido esteárico, AE) e lipídeo semi-sólido (fosfatidilcolina, Fosf) e 24 mL da mistura etanol/acetona (1:1), contendo 22 mg HAP-Cr³⁺ com superfície modificada, como fase oleosa. A fase aquosa foi constituída por 240 mL de água destilada e 1,67 g de lauril sulfato de sódio (0,7%). Ambas as fases foram aquecidas a 70°C. A fase aquosa foi vertida sobre a fase oleosa sob agitação de 12.000 rpm em ultra-turrax (IKA[®], Modelo T25). A dispersão foi resfriada à temperatura ambiente e mantida sob refrigeração (Lima, 2010; Rossan, 2011; Souto *et al.*, 2011; Lima, 2012). As nanopartículas foram liofilizadas no Liofilizador (Liofilizador LS 300, Terrone Científicos) por cerca de 5 dias. As composições dos carreadores lipídicos nanoestruturados (CLN) estão representadas na Tabela I.

TABELA I: Componentes das formulações e distribuição quantitativa.

Formulação	AE	Fosf	AO	HAP	SDS
CLN	50%	10%	40%	-	0,7%
CLN HAPAE Cr ³⁺	50%	10%	40%	22 mg	0,7%

2.2. Preparação do Creme à Base de Óleo de Babaçu (*Orbignia Oleifera*)

O creme foi preparado pelo método inversão de fases (Ferrari *et al.*, 2008). Os tensoativos, Tween 80 (75%) e Span 60 (25%) foram empregados. A quantidade total de

tensoativos foi de 25%. A fase oleosa (O) foi composta pelo óleo de babaçu (10%) e Span 60. A fase aquosa (A) foi composta pela água destilada e Tween 80. Ambas as fases foram aquecidas a uma temperatura de $75 \pm 1^\circ\text{C}$. A fase A foi lentamente vertida na fase O, sob agitação constante, em agitador mecânico Fisatom 713[®] até o resfriamento do sistema a uma temperatura ambiente $25 \pm 1^\circ\text{C}$. Posteriormente, foi adicionado Carbômer 940[®] a 0,5%, como agente de viscosidade (Ferrari *et al.*, 2008; Lima *et al.*, 2008; Machado *et al.*, 2009; Moraes, 2011; Leal *et al.*, 2013). Para este procedimento, o pH do meio foi ajustado para 7,0 com solução de trietilamina para a obtenção do creme.

Após a preparação do creme, o nanocarreador foi incorporado à temperatura ambiente em uma proporção 1:9 (CLN/creme e CLN HAPAE-Cr³⁺/creme) e mantido sob agitação magnética por 24 horas. As formulações obtidas no estudo foram: F1 – Creme inerte; F2 – Creme contendo CLN; F3 – Creme contendo CLN HAPAE Cr³⁺.

2.3 Estudo de Estabilidade do Creme

O estudo da estabilidade fornece indicações sobre o comportamento da formulação em determinado intervalo de tempo, frente às condições ambientais, a que possa ser submetido, desde a fabricação até o término da validade (Moraes, 2011). Para os testes de estabilidade, as condições de armazenagem mais comuns são: temperatura (elevada, do ambiente e baixa) e ciclos de congelamento e de descongelamento.

O estudo de estabilidade seguiu o protocolo preconizado pela Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA) proposto no Guia de Estabilidade de Produtos Cosméticos (Brasil, 2004; Garcia, 2009; Moraes, 2011).

Logo após o preparo das amostras, foi realizada a análise macroscópica, observando-se as características organolépticas, processos de instabilidade (separação de fases), pH e a

condutividade (Chorilli *et al.*, 2009; Savian, 2011).

2.3.1 Determinação do pH e condutividade

As amostras em estudo F1, F2 e F3 foram acondicionadas em recipientes adequados hermeticamente fechados. Medidas de condutividade elétrica foram realizadas à temperatura ambiente $25^{\circ}\text{C} \pm 1$, com auxílio do Medidor de Condutividade portátil (modelo Micro Processor, Alpax), previamente aferido com solução padrão de KCL 0,1 N. Este ensaio foi realizado em triplicata (Masmoudi *et al.*, 2005; Ferrari *et al.*, 2008; Lima *et al.*, 2008; Leal *et al.*, 2013).

A determinação do pH das formulações em estudo foi realizada em amostra diluída em água destilada (10%, m/v), utilizando um potenciômetro digital com eletrodo de vidro e sensor de temperatura da marca PHTEK PH 3B, previamente calibrado com soluções tampão pH 4,0 e 7,0 a uma temperatura de $25 \pm 1^{\circ}\text{C}$ (Ferrari *et al.*, 2008; Lima *et al.*, 2008; Moraes, 2011; Leal *et al.*, 2013). Este ensaio foi realizado em triplicata.

2.3.2 Teste preliminar de centrifugação

Para o teste de estabilidade à centrifugação, alíquotas de, aproximadamente, 5g da amostra foram pesadas e acondicionadas em frascos. As amostras foram submetidas à centrifugação na centrífuga Centrifuge 5804 R Eppendorf[®], numa velocidade de 3.500 rpm, durante 30 minutos. Posteriormente, foi avaliado visualmente qualquer sinal de instabilidade da amostra (Castelli *et al.*, 2008; Garcia, 2009; Moraes, 2011).

2.3.3 Teste de estabilidade acelerada

2.3.3.1. Ciclo estufa

As amostras foram submetidas a uma temperatura de $45 \pm 2^{\circ}\text{C}$ na estufa (Modelo 85^a, Sdonto), durante 7 dias, a partir de t_0 (primeiro dia), feita análise a cada 24 horas (Lange *et al.*, 2009; Garcia, 2009; Moraes, 2011).

2.3.3.2 Ciclo sob refrigeração

As amostras foram submetidas a uma temperatura de $5 \pm 2^{\circ}\text{C}$ na geladeira, durante 7 dias, a partir de t_0 (primeiro dia), feita análise a cada 24 horas (Lange *et al.*, 2009; Garcia, 2009; Moraes, 2011).

2.3.3.3 Ciclo gelo/degelo

As amostras foram submetidas ao estresse térmico, durante 15 dias, as amostras foram armazenadas em temperaturas alternadas, em intervalos regulares de tempo. Ciclos de 24 horas a $45 \pm 2^{\circ}\text{C}$, e 24 horas a $5 \pm 2^{\circ}\text{C}$ e foram trocadas as condições de armazenamento nos dias ímpares na estufa (Modelo 85^a, Sdonto) (DE), dias pares sob refrigeração (DR) a cada 24 horas, as amostras foram submetidas a análises (Lima *et al.*, 2008; Lange *et al.*, 2009; Garcia, 2009; Moraes, 2011).

2.4 Avaliação do Comportamento Reológico

As propriedades reológicas do creme foram determinadas utilizando um Reômetro Anton Paar (Physica MCR 302 Modular Compact) tipo placa paralela em estado estacionário com diâmetro de 25 mm e a distância entre placas de 1 mm, acoplado ao *Software Start Rheoplus*. A medida foi feita à temperatura ambiente de 25°C, numa velocidade de cisalhamento de 0,01-100 s⁻¹ (Moraes, 2011; Ullisch, 2012; Savary *et al.*, 2013).

Os gráficos obtidos relacionam valores da velocidade de cisalhamento (1/s), no eixo das abscissas, com os valores de tensão de cisalhamento (Pa) e viscosidade (Pa.s), no eixo das coordenadas, obedecendo ao modelo matemático Lei da potência, de acordo com a equação (1) abaixo:

$$\sigma = k \cdot \dot{\gamma}^n \quad (1)$$

Onde: σ = Tensão de cisalhamento (Pa);

k = Índice de consistência (Pa.sⁿ);

$\dot{\gamma}$ = Velocidade de cisalhamento (1/s);

n = Índice de fluxo.

2.5 Avaliação da Capacidade de Espalhabilidade

A determinação da espalhabilidade foi realizada por adição de pesos (placas de vidros) específicos sobre a amostra em triplicata. Foi adicionada 0,3 g da amostra sobre a placa de vidro retangular de área 18 x 10 cm colocada sobre o papel milimetrado. Os pesos adicionados foram 250 g, 500 g, 750 g e 1000 g e, após um minuto, foi realizada a leitura do diâmetro abrangido pela amostra.

Os resultados foram expressos em espalhabilidade da amostra em função do peso aplicado, de acordo com a equação (2) abaixo (Borghetti; Knorst, 2006; Lange *et al.*, 2009; Savian *et al.*, 2011; Apolinário, 2011; Silva, 2012; Rodrigues, 2013):

$$Ei = \frac{d^2 \cdot \pi}{4} \quad (2)$$

Onde: Ei = espalhabilidade da amostra para um determinado peso (mm^2);

d = diâmetro (mm).

2.6 Avaliação do efeito oclusivo

O fator de oclusão pode ser determinado pelo teste de Vringer *in vitro*. O teste foi realizado em triplicata, pesando 2g de cada amostra. As quais foram aplicadas homogeneamente sob papel filtro e colocadas em cima dos frascos de 100 mL com $3,36 \text{ cm}^2$ de área, contendo 30g de água em cada, em que permaneceram sob temperatura a 32°C por 64h. As amostras foram pesadas em períodos diferentes de tempo (2, 4, 6, 8, 12, 24, 32, 48 e 64h) para avaliar o fator oclusão a partir da equação (3) (Lacerda, 2009, Ferreira, 2012):

$$F = \frac{A-B}{A} \times 100 \quad (3)$$

Onde: F = Fator de oclusão

A = Massa de água perdida do controle

B = Massa de água perdida da amostra

Usou-se água como controle neste teste de oclusão (nenhum efeito oclusivo).

2.7 Avaliação do Potencial de Interação do Creme à Base de Óleo de Babaçu em Modelo de Estrato Córneo por Calorimetria Exploratória Diferencial (DSC)

Como modelo de estrato córneo, foram utilizadas porções ventrais de membrana de muda de cobra da espécie *Boa constrictor*, que foram recortadas e lavadas com água destilada corrente à temperatura ambiente. Estas permaneceram imersas em água destilada por 1h para

hidratação. Após este período, as biomembranas tiveram o excesso de água retirado por papel filtro quantitativo, com leve compressão, e deixado à temperatura ambiente por trinta minutos. Posteriormente, as biomembranas foram transferidas para placas de Petri em que permaneceram em contato com o creme por 2h. Decorrido o tempo indicado, as amostras foram retiradas, lavadas com água destilada, secas entre folhas de papel de filtro quantitativo, com leve compressão (Takaoka *et al.*, 2010).

Em seguida, as amostras de muda de cobra foram analisadas por DSC, utilizando, aproximadamente 1,0 mg de massa seca selada hermeticamente em cadinho de alumínio. As amostras foram submetidas às condições descritas a seguir, utilizando-se o equipamento DSC 60 – *Differential Scanning Calorimeter* – SHIMADZU (Takaoka *et al.*, 2010):

- Temperatura inicial $\rightarrow 25^{\circ}\text{C}$;
- Rampa de resfriamento $\rightarrow 20^{\circ}\text{C}.\text{min}^{-1}$ até 0°C ;
- Isoterma $\rightarrow 5$ min;
- Rampa de aquecimento $\rightarrow 10^{\circ}\text{C}.\text{min}^{-1}$ até 200°C ;
- Rampa de resfriamento $\rightarrow 20^{\circ}\text{C}.\text{min}^{-1}$ até 0°C ;
- Isoterma $\rightarrow 5$ min;
- Rampa de reaquecimento $\rightarrow 10^{\circ}\text{C}.\text{min}^{-1}$ até 200°C ;
- Temperatura final $\rightarrow 25^{\circ}\text{C}$

2.8 Análise Estatística

Os resultados dos ensaios de estabilidade foram submetidos ao teste estatístico *One-way* ANOVA análises de variância seguida pelo *post test* de Tukey. Os parâmetros das análises reológicas foram realizados pelo *software OriginPro 8®*. As análises estatísticas foram realizadas através do *software* estatístico *GraphPad Prism®*.

3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

3.1 Estudo de Estabilidade do Creme

O pH de uma amostra deve garantir a estabilidade dos componentes da formulação, sua eficácia e segurança. O pH das formulações em estudo mostrou-se levemente ácido numa faixa 4,53 – 5,97, compatível com o pH cutâneo (Garcia, 2009) (Tabelas II, III, IV e V).

A condutividade é frequentemente usada para determinar o sentido de fases e para monitorar a sua estabilidade durante o período de estocagem. Esse método é sensível a mudanças pequenas na estrutura do creme (Masmoudi *et al.*, 2005; Moraes, 2006; Pianovski *et al.*, 2008; Garcia, 2009; Lustosa, 2012).

3.1.1 Teste preliminar de centrifugação

O teste de centrifugação é eficaz na determinação da instabilidade dos produtos emulsionados, já que a simulação de aumento da força de gravidade pode promover separação de componentes de diferentes densidades, como nas fases óleo e água (Viana-Filho 2009; Garcia, 2009; Apolinário, 2011; Moraes, 2011). Diversos valores de rotação e tempo de centrifugação são citados na literatura, entretanto, o uso da ultracentrifugação não é recomendado. Velocidades de rotação moderadas entre 2000 e 5000 rpm, durante curto período, são muito úteis para verificar o comportamento das gotículas emulsionadas frente à força da gravidade (Moraes, 2011).

As formulações F1, F2 e F3, após serem submetidas à centrifugação, mantiveram estáveis, ou seja, sem mudança macroscópica e sem separação de fases. E também não apresentaram alteração do pH e na condutividade elétrica (Tabela II). Isso deve ter ocorrido

devido ao uso de tensoativos adequados, garantindo uma formulação estável (Ferrari *et al.*, 2008; Moraes, 2011).

TABELA II: Valores de pH e condutividade elétrica (cond) da estabilidade no teste de centrifugação contendo as formulações F1, F2 e F3, valores com média \pm desvio padrão. Em caso de variação significativa ($p > 0,005$).

	Antes centrifugação	Após centrifugação
Formulação	pH / cond	pH / cond
F1	$5,71 \pm 0,06 / 294,66 \pm 2,88$	$5,71 \pm 0,06 / 294,66 \pm 2,88$
F2	$4,68 \pm 0,07 / 3,13 \pm 0,02$	$4,68 \pm 0,07 / 3,13 \pm 0,02$
F3	$4,53 \pm 0,03 / 3,05 \pm 0,05$	$4,53 \pm 0,03 / 3,05 \pm 0,05$

Fonte: Própria.

Legenda: Não houve diferença significativa ($p < 0,005$).

3.1.2 Teste de estabilidade acelerada

O teste de estabilidade acelerada foi realizado após o teste de estabilidade preliminar e indicado para avaliar as características das emulsões quando submetidas às condições de estresse. Foram avaliados os parâmetros: avaliação macroscópica e determinação dos valores de pH e condutividade (Tadros, 2004; Morais, 2006; Velasco *et al.*, 2008; Moraes, 2011; Lustosa, 2012).

3.1.2.1. Ciclo estufa

Durante o Ciclo Estufa, as formulações estudadas num período de 7 dias apresentaram-se macroscopicamente estáveis, aparentemente homogêneas, com aspecto leitoso durante todo o período de armazenamento.

O pH é um parâmetro muito significativo, pois uma alteração significativa de seu valor pode sugerir modificações químicas dos componentes presentes na formulação (Ferrari, 2008;

Garcia, 2009). Os valores de pH estão entre 4,53 – 5,80 compatíveis com o pH cutâneo e não sofreram alterações significativas ($p < 0,005$) durante todo o período de armazenamento (Tabela III).

Os resultados (Tabela III) demonstram que os valores de condutividade não sofreram alterações significativas ($p < 0,005$) durante todo o período de armazenamento, quando analisadas as formulações F1, F2 e F3. Ocorreu uma variação significativa ($p > 0,005$) do tempo t0 ao t1, na formulação F2 e F3, devido à variação da temperatura, pois, com o aumento de temperatura, pode ocorrer um acréscimo na condutividade, isso se deve ao aumento na temperatura, a qual eleva a dissociação de íons e reduz a viscosidade da solução, o que resulta em aumento de condutividade (Gaspar; Nakagawa, 2005; Torres *et al.*, 2009; Nunes, 2011). No entanto, não foi observada alteração macroscópica nas formulações estudadas, mesmo com a variação da condutividade.

TABELA III: Valores de pH e condutividade elétrica (cond) da estabilidade no teste de estufa contendo as formulações F1, F2 e F3 em função do tempo de armazenamento, valores com média \pm desvio padrão.

Estabilidade Estufa ($45^{\circ} \pm 2^{\circ}\text{C}$)						
	F1		F2		F3	
Dia (d)	Ph	Cond	pH	Cond	pH	Cond
t0	$5,71 \pm 0,06$	$294,66 \pm 2,88$	$4,68 \pm 0,07$	$3,13 \pm 0,20^*$	$4,53 \pm 0,03$	$3,05 \pm 0,05^*$
t1	$5,75 \pm 0,07$	$295,90 \pm 3,60$	$5,30 \pm 0,02$	$7,36 \pm 0,09$	$4,82 \pm 0,06$	$7,12 \pm 0,10$
t2	$5,72 \pm 0,05$	$298,33 \pm 3,51$	$5,30 \pm 0,02$	$7,40 \pm 0,05$	$5,01 \pm 0,02$	$7,09 \pm 0,11$
t3	$5,80 \pm 0,03$	$299,23 \pm 0,72$	$5,37 \pm 0,01$	$7,42 \pm 0,05$	$4,88 \pm 0,08$	$7,15 \pm 0,07$
t4	$5,80 \pm 0,04$	$299,46 \pm 0,50$	$5,38 \pm 0,01$	$7,42 \pm 0,03$	$4,83 \pm 0,17$	$7,06 \pm 0,06$
t5	$5,78 \pm 0,01$	$299,86 \pm 0,50$	$5,36 \pm 0,01$	$7,26 \pm 0,32$	$4,99 \pm 0,36$	$7,11 \pm 0,11$
t6	$5,78 \pm 0,01$	$300,26 \pm 1,55$	$5,37 \pm 0,01$	$7,28 \pm 0,24$	$4,88 \pm 0,02$	$7,14 \pm 0,07$
t7	$5,80 \pm 0,03$	$299,90 \pm 1,22$	$5,37 \pm 0,01$	$7,39 \pm 0,01$	$4,81 \pm 0,16$	$7,12 \pm 0,17$

Legenda: Houve diferença significativa ($p > 0,005$)*, quando analisados F2 do tempo t0 em relação a t1, o mesmo ocorreu com a formulação F3.

3.1.2.2 Ciclo sob refrigeração

As formulações F1, F2 e F3 foram analisadas sob condições de refrigeração apresentaram-se aparentemente homogêneas, aspecto leitoso durante todo o período de armazenamento.

Os valores de pH encontrados nos sistemas estudados estão entre 5,09 – 5,97 compatíveis com o pH cutâneo e não sofreram alterações significativas ($p < 0,005$) durante todo o período de armazenamento. Os valores de condutividade encontrados em F1, F2 e F3, quando analisados, não sofreram alterações significativas ($p < 0,005$) durante o período de estudo (Tabela IV).

TABELA IV: Valores de pH e condutividade elétrica no teste de estabilidade sob refrigeração contendo as formulações F1, F2 e F3 em função do tempo de armazenamento, valores com média \pm desvio padrão.

Estabilidade sob Refrigeração ($5^{\circ} \pm 2^{\circ}\text{C}$)						
Dia (d)	F1		F2		F3	
	pH	Cond	pH	Cond	pH	Cond
t0	$5,72 \pm 0,02$	$189,00 \pm 0,58$	$5,61 \pm 0,01$	$3,3 \pm 0,23$	$5,13 \pm 0,08$	$5,70 \pm 0,09$
t1	$5,66 \pm 0,01$	$186,00 \pm 1,53$	$5,33 \pm 0,44$	$3,61 \pm 0,06$	$5,16 \pm 0,09$	$5,80 \pm 0,01$
t2	$5,69 \pm 0,02$	$187,30 \pm 2,01$	$5,58 \pm 0,67$	$3,61 \pm 0,01$	$5,14 \pm 0,09$	$5,69 \pm 0,27$
t3	$5,70 \pm 0,06$	$188,45 \pm 2,13$	$5,57 \pm 0,01$	$3,65 \pm 0,02$	$5,23 \pm 0,05$	$5,60 \pm 0,05$
t4	$5,72 \pm 0,02$	$187,90 \pm 1,71$	$5,97 \pm 0,24$	$3,65 \pm 0,06$	$5,06 \pm 0,12$	$5,58 \pm 0,08$
t5	$5,65 \pm 0,03$	$188,00 \pm 1,16$	$5,10 \pm 0,26$	$3,61 \pm 0,04$	$5,10 \pm 0,06$	$5,69 \pm 0,02$
t6	$5,66 \pm 0,05$	$187,80 \pm 1,71$	$5,76 \pm 0,15$	$3,70 \pm 0,03$	$5,09 \pm 0,04$	$5,58 \pm 0,07$
t7	$5,67 \pm 0,01$	$187,90 \pm 1,41$	$5,35 \pm 0,31$	$3,67 \pm 0,19$	$5,09 \pm 0,02$	$5,70 \pm 0,06$

Legenda: Não houve diferença significativa ($p < 0,005$).

3.1.2.3 Ciclo gelo/degelo

Durante o teste ciclo gelo/degelo, as formulações estudadas num período de 15 dias não apresentaram alteração macroscópica durante todo o período de armazenamento; as formulações F1, F2 e F3 apresentaram-se aparentemente homogêneas e aspecto leitoso.

Na análise do pH, os valores encontrados variam de 4,72 – 5,69, analisando todos os sistemas estudados, não ocorreu uma variação significativa ($p < 0,005$). Na análise de condutividade, ocorreu uma variação significativa ($p > 0,005$), quando analisado cada sistema dia a dia, no entanto, quando analisados os sistemas sob mesmas condições de temperatura, não ocorreu uma variação significativa ($p < 0,005$), o que foi observado durante o teste de estufa e o teste sob refrigeração, em que os sistemas estudados não tiveram variação (Tabela V).

TABELA V: Valores de pH e condutividade elétrica da estabilidade no teste ciclo gelo/degelo contendo as formulações F1, F2 e F3 em função do tempo de armazenamento, valores com média \pm desvio padrão.

Estabilidade sob Gelo/Degelo						
Dia (d)	F1		F2		F3	
	pH	Cond	pH	Cond	pH	Cond
t0	5,69 \pm 0,04	289,43 \pm 0,51*	5,40 \pm 0,03	2,96 \pm 0,05*	4,72 \pm 0,17	3,17 \pm 0,30*
t1	5,67 \pm 0,01	295,67 \pm 3,05*	5,39 \pm 0,01	7,33 \pm 0,10*	4,82 \pm 0,05	6,87 \pm 0,17*
t2	5,63 \pm 0,09	240,56 \pm 4,17*	5,35 \pm 0,02	3,75 \pm 0,12*	5,13 \pm 0,03	4,97 \pm 0,05*
t3	5,57 \pm 0,01	299,33 \pm 1,52*	5,36 \pm 0,02	7,05 \pm 0,07*	4,78 \pm 0,01	7,12 \pm 0,18*
t4	5,64 \pm 0,06	243,03 \pm 2,75*	5,36 \pm 0,01	3,58 \pm 0,02*	5,15 \pm 0,01	5,11 \pm 0,08*
t5	5,60 \pm 0,03	299,67 \pm 0,57*	5,37 \pm 0,01	7,12 \pm 0,22*	4,85 \pm 0,05	7,04 \pm 0,06*
t6	5,54 \pm 0,05	246,03 \pm 0,95*	5,41 \pm 0,02	3,86 \pm 0,06*	5,17 \pm 0,01	5,11 \pm 0,12*
t7	5,64 \pm 0,06	300,16 \pm 0,35*	5,38 \pm 0,01	7,18 \pm 0,16*	4,80 \pm 0,01	7,25 \pm 0,08*
t8	5,60 \pm 0,03	246,53 \pm 0,56*	5,41 \pm 0,02	3,77 \pm 0,03*	5,16 \pm 0,01	5,11 \pm 0,14*
t9	5,54 \pm 0,04	299,97 \pm 0,05*	5,38 \pm 0,01	7,16 \pm 0,05*	4,85 \pm 0,04	7,29 \pm 0,03*
t10	5,64 \pm 0,04	247,67 \pm 0,57*	5,44 \pm 0,01	3,70 \pm 0,06*	5,17 \pm 0,02	5,07 \pm 0,03*
t11	5,60 \pm 0,06	300,47 \pm 0,57*	5,37 \pm 0,01	7,21 \pm 0,11*	4,87 \pm 0,01	7,11 \pm 0,19*
t12	5,59 \pm 0,02	250,00 \pm 2,64*	5,44 \pm 0,01	3,67 \pm 0,03*	5,17 \pm 0,01	5,11 \pm 0,10*
t13	5,61 \pm 0,06	300,30 \pm 0,60*	5,37 \pm 0,01	7,20 \pm 0,14*	4,87 \pm 0,02	7,13 \pm 0,04*
t14	5,62 \pm 0,05	251,33 \pm 2,51*	5,47 \pm 0,02	3,51 \pm 0,05*	5,18 \pm 0,01	5,09 \pm 0,11*
t15	5,62 \pm 0,05	301,70 \pm 0,65*	5,37 \pm 0,01	7,16 \pm 0,11*	4,89 \pm 0,01	7,15 \pm 0,07*

Fonte: Própria

Legenda: Dias ímpares na estufa (DE), dias pares sob refrigeração (DR) houve *diferença significativa ($p > 0,005$), quando analisado DE e DR; não houve diferença significativa quando analisadas DE somente e DR somente.

3.2 Avaliação do Comportamento Reológico

A Reologia é definida como a ciência que estuda o fluxo e o modo como os materiais respondem à aplicação de uma força ou tensão. É uma manifestação direta da interação das forças que ocorrem no sistema. As instabilidades provenientes da variação no tamanho e no número de partículas e na orientação ou migração do emulsionante, durante um período de tempo, podem ser detectadas por meio de alterações na viscosidade aparente do produto

(Logaraj *et al.*, 2008; Borella *et al.*, 2010; Garcia, 2009; Silva, 2012). A avaliação da viscosidade ajuda a determinar se um produto apresenta a consistência ou fluidez apropriada e pode indicar se a estabilidade é adequada, ou seja, fornece indicação do comportamento do produto ao longo do tempo.

A partir dos reogramas (Figuras 2, 3 e 4) das formulações F1, F2 e F3, pode-se verificar que não existe relação linear entre os valores de tensão de cisalhamento e velocidade de cisalhamento, ou seja, houve uma alteração da viscosidade com o aumento da força de cisalhamento aplicada, denotando fluido não-newtoniano.

O comportamento apresentado pelas formulações demonstrou que as amostras em estudo apresentaram fluxo pseudoplástico, uma vez que obtiveram um valor de índice de fluxo (n) menor que 1, onde n representa o desvio em relação ao comportamento Newtoniano, indicando que a adição das nanopartículas e nanopartícula contendo HAP nas formulações F2 e F3, respectivamente, não modificou o comportamento reológico das mesmas quando comparadas com a formulação F1 (Tabela VI) (Silva, 2012).

Este tipo de comportamento é desejado em formulações farmacêuticas para aplicação na pele, pois sua viscosidade aparente diminui com o aumento da tensão, tornando mais fluida, facilitando sua espalhabilidade na pele durante a aplicação e resultando na formação de filme uniforme (Silva, 2012). Assim, as características e o desempenho das formulações são frequentemente relacionados às suas propriedades reológicas, principalmente, às propriedades de fluxo, que determinam a sua consistência (Prestes *et al.*, 2009; Isaac *et al.*, 2008; Silva, 2012; Gilberto *et al.*, 2013).

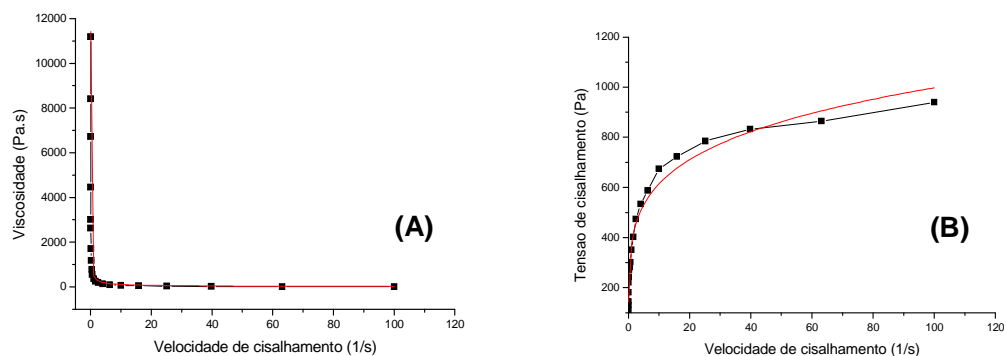


FIGURA 2: Reogramas da formulação F1 (A, B) realizados à temperatura de 25°C onde viscosidade (Pa.s) e tensão de cisalhamento (Pa) em função da velocidade de cisalhamento (1/s).

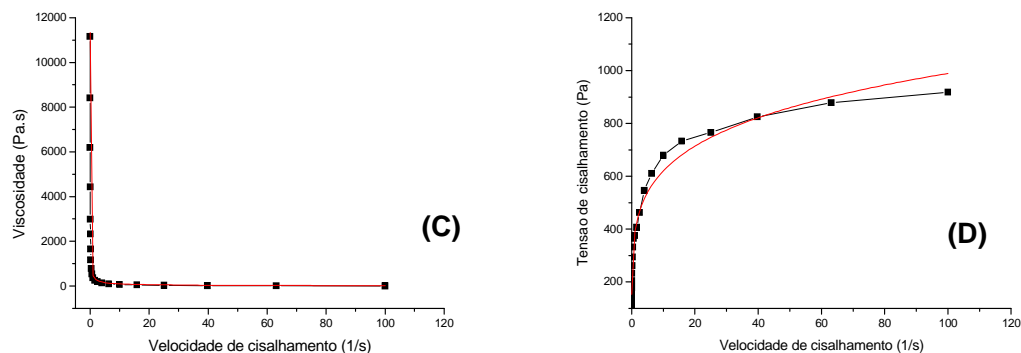


FIGURA 3: Reogramas da formulação F2 (C, D) realizados à temperatura de 25°C onde viscosidade (Pa.s) e tensão de cisalhamento (Pa) em função da velocidade de cisalhamento (1/s).

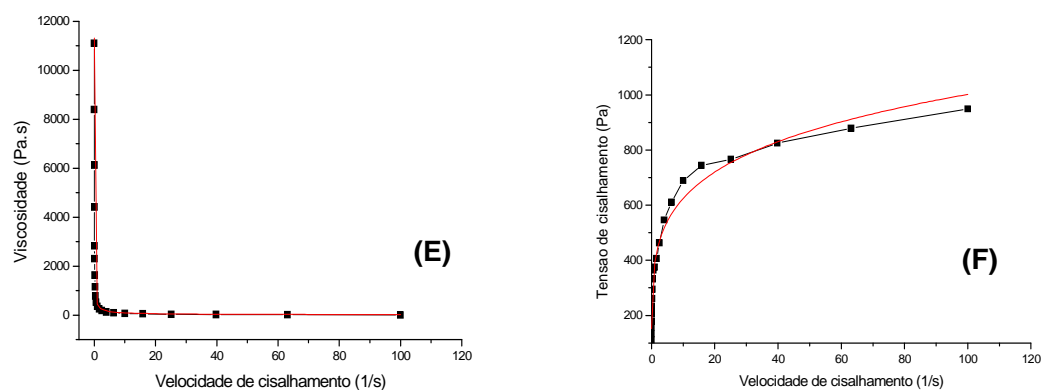


FIGURA 4: Reogramas da formulação F3 (E, F) realizados à temperatura de 25°C onde viscosidade (Pa.s) e tensão de cisalhamento (Pa) em função da velocidade de cisalhamento (1/s).

TABELA VI: Valores referentes ao índice de fluxo, das formulações F1, F2 e F3.(n=3), valores com média \pm desvio padrão.

Formulação	Índice de fluxo (n)
F1	0,20830 \pm 0,0001
F2	0,20270 \pm 0,0001
F3	0,20521 \pm 0,0001

3.3 Avaliação da Capacidade de Espalhabilidade

No desenvolvimento de formulações semissólidas, a avaliação da capacidade de espalhabilidade constitui um teste importante para a avaliação da estabilidade de formulações, visto que mudanças na consistência dos produtos poderão ser detectadas. A literatura relata a utilização deste ensaio na avaliação da estabilidade de formulações semissólidas tópicas (Savian *et al.*, 2011).

Os valores de espalhabilidade obtidos para as formulações em estudo em função do peso adicionado encontram-se representados na Figura 5.

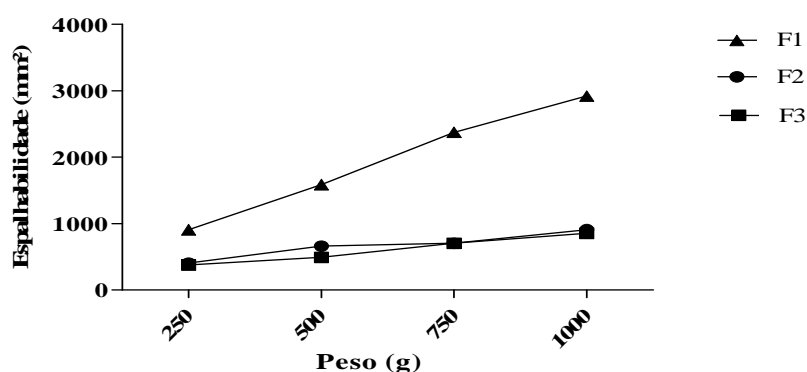


FIGURA 5: Gráfico representativo do perfil de espalhabilidade para formulações F1, F2 e F3. (n=3). Não ocorreu diferença significativa entre F2 e F3 ($p < 0,005$).
Fonte: Própria.

As formulações estudadas apresentaram comportamentos semelhantes nas diferentes condições estudadas. A redução da espalhabilidade das formulações F2 e F3, quando comparadas com a formulação F1, não comprometeu a qualidade do produto (Friedrich *et al.*, 2007; Rodrigues, 2013).

Analisando o gráfico acima (Figura 5), pode-se observar que a presença da HAP não altera, significativamente, a espalhabilidade do sistema, uma vez que a formulação F2 não apresenta diferença, expressivamente, ($p < 0,005$), quando comparada com a formulação F3.

3.4 Avaliação do efeito oclusivo

Alguns produtos cosméticos comercializados atualmente já possuem carreadores lipídicos nanoestruturados em sua composição, visando melhorar as características de hidratação cutânea. Isto é possível porque os carreadores lipídicos formam um filme oclusivo que dificulta a perda transepidermal de água, aumentando a quantidade da mesma nas camadas viáveis da pele (Baumann, 2009; Pardeike *et al.*, 2009; Ferreira, 2012).

Diante disso, o efeito oclusivo é um parâmetro importante nas formulações cosméticas que utilizam substâncias oclusivas que melhora a hidratação da pele. Esse efeito pode ser calculado pelo fator de oclusão que varia de 0-100%, sendo esse efeito de 0%, ou seja, não ocorre oclusão (controle) e 100% a máxima oclusão (Souto; Muller, 2008; Ferreira, 2012).

A Figura 6 apresenta os resultados obtidos do efeito oclusivo contendo carreadores lipídicos nanoestruturados, que apresentaram fatores de oclusão superiores a 45%, o que indica que os CLN desenvolvidos nas formulações F2 e F3 podem representar um efeito oclusivo da mesma ordem de grandeza de sistemas da mesma natureza (lipídicos), encontrados na literatura (Souto; Muller, 2008; Lacerda, 2009). Quanto menor o tamanho das

partículas, maior é a barreira para a evaporação, e quanto maior o tamanho destas partículas, uma maior quantidade de água será evaporado (Ferreira, 2012).

O efeito oclusivo evidenciou que os carreadores lipídicos nanoestruturados aumentaram o fator de oclusão do creme, demonstrando seu potencial cosmético (Ferreira, 2012).

Foi feita análise estatística entre as formulações F2 e F3, quando constatou-se que não ocorreu uma variação significativa ($p < 0,005$). As formulações F2 e F3 apresentam uma grande carga lipídica e um tamanho de partícula pequeno, o que justifica os valores encontrados.

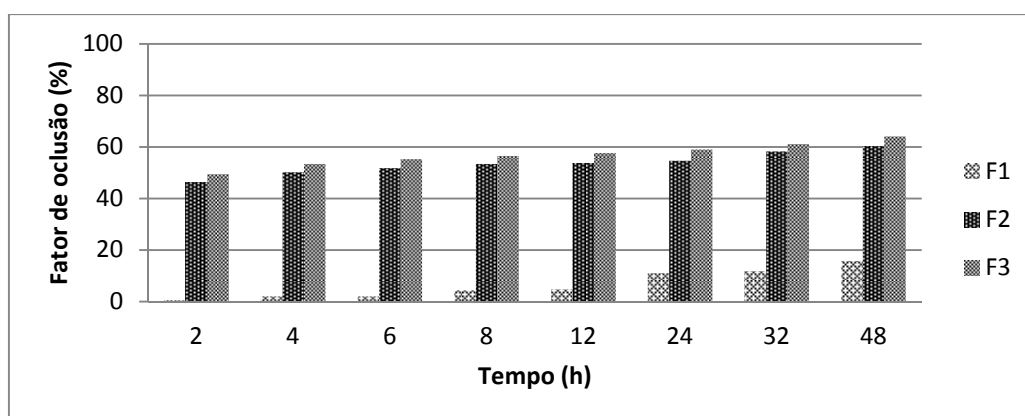


FIGURA 6: Gráfico representativo do fator de oclusão para F1, F2 e F3. (n=2). Não ocorreu diferença significativa entre F2 e F3 ($p < 0,005$).

Fonte: Própria.

3.5 Avaliação do Potencial de Interação do Creme à Base de Óleo de Babaçu em Modelo de Estrato Córneo por Calorimetria Exploratória Diferencial (DSC)

O estudo de substâncias ativas promotoras de efeito hidratante pode ser realizado com a pele de cobra, que possui uma propriedade barreira semelhante à pele humana, simulando o estrato córneo. A mudança estrutural no estrato córneo é avaliada por DSC, a qual permite a análise dos efeitos que os compostos exercem em sua estrutura, quando aplicados sobre a pele

(Baby *et al.*, 2006; Silva 2009).

De acordo com Takaoka e colaboradores (2010), a temperatura de pico (T_{pico}) corresponde à máxima taxa e evolução do aquecimento detectado, ou seja, quanto mais elevado o valor de T_{pico} , mais profunda é a camada da pele em que a água se encontra. E a entalpia (ΔH), que representa a quantidade de calor necessária para que haja a evaporação da água presente na amostra e/ou a fusão da sua estrutura cristalina, pois, quanto maior a entalpia, mais elevada é a quantidade de água presente na amostra.

A partir disso, a análise por DSC (Tabela VII) forneceu resultados importantes de T_{pico} e ΔH para a avaliação do potencial de interação do creme à base de óleo de babaçu em modelo de estrato córneo, que foram comparados entre a pele de cobra tratada com o creme inerte (F1), tratada com creme contendo CLN (F2), tratada com creme contendo CLN HAPAE Cr^{3+} (F3) e sem tratamento (Controle). As amostras tratadas (F1, F2, F3) demonstraram que, a partir do T_{pico} , o conteúdo de água encontra-se em uma camada com profundidade semelhante, já que as T_{pico} variam em uma mesma faixa. Portanto, não ocorrem alterações na biomembrana após a aplicação dos ativos, sugerindo maior hidratação cutânea (Takaoka *et al.*, 2010).

A pele de cobra sem o tratamento (Controle) mostra que o conteúdo de água pode estar localizado na superfície da pele de cobra.

As medidas de DSC indicaram que as amostras de estrato córneo tratadas com F2 e F3 apresentaram maior valor de ΔH (Tabela VII), sugerindo maior retenção de água e um provável efeito hidratante (Takaoka *et al.*, 2010).

TABELA VII: Avaliação do potencial de interação do creme a base de óleo de babaçu em

modelo de estrato córneo das formulações F1, F2 e F3 através do DSC.

Amostra	T_{pico}(°C)	T_{onset}(°C)	ΔH_{calculado}(J/g)
Pele de cobra sem tratamento (Controle)	71,35	48,25	-353,99
Pele de cobra tratada com o creme (F1)	195,88	188,91	-188,05
Pele de cobra tratada com creme contendo CLN inerte (F2)	197,64	129,45	-176,05
Pele de cobra tratada com creme contendo CLN HAPAE Cr ³⁺ (F3)	198,02	193,87	-172,39

T_{pico} (Temperatura de pico); T_{onset} (Temperatura *onset*) e ΔH_{calculado} (Entalpia).

4 CONCLUSÃO

Diante dos resultados de estabilidade apresentados, pode-se concluir que as formulações estudadas mantiveram-se estáveis nas condições avaliadas.

As formulações avaliadas apresentaram comportamento pseudoplástico, não ocorrendo alterações no comportamento reológico das formulações, após incorporação dos carreadores lipídicos nanoestruturados nas formulações F2 e F3.

A presença da hidroxiapatita na formulação F3 não altera, expressivamente, a espalhabilidade do sistema, uma vez que a formulação F2 não apresenta diferença, significativamente, (p<0,005), quando comparada com a formulação F3.

Os resultados do teste de oclusão indicaram que os carreadores lipídicos nanoestruturados aumentaram a oclusão do creme demonstrando seu potencial cosmético.

Na avaliação do potencial de interação por calorimetria exploratória diferencial (DSC), a análise demonstrou que as amostras de estrato córneo tratadas com F2 e F3 apresentaram maior valor de ΔH, sugerindo maior retenção de água e um provável efeito hidratante, além

do maior valor T_{pico} indicando que o conteúdo de água pode estar localizado em uma camada mais profunda do modelo de estrato córneo.

Estes resultados podem apresentar o CLN como um veículo promissor para formulações cosméticas de proteção solar.

AGRADECIMENTOS

Os autores agradecem pelos financiamentos recebidos do CNPq, ao PIBIC/CNPq, PIBIT/CNPq, FAPITEC-SE, LNLS, CETENE e a CAPES, pelo apoio aos projetos desenvolvidos no Laboratório de Desenvolvimento Farmacotécnico, LADEF da UFS.

REFERÊNCIAS

AGUIAR, A. P.; NASCIMENTO, L. F.; SANTOS, E. P. Fotoprotetores Orgânicos: Pesquisa, Inovação e a Importância da Síntese Orgânica. **Revista Virtual Química.**, v.6, n. 2, p. 190-223, 2013.

AMBROGI, V. *et al.* Mesoporous silicate MCM-41 containing organic ultraviolet Ray absorbents: Preparation, photostability and in vitro release. **Journal of Physics and Chemistry of Solids.**, v. 68, p. 1173-1177, 2007.

ANDREASSI, M. Sunscreens and photoprotection. **Expert Rev Dermatol.**, v. 6, n. 5, p. 433-435, 2011.

APOLINÁRIO, A. C. **Uso da ferramenta de planejamento fatorial na obtenção de emulsões não iônicas fotoprotetoras.** Tese - Universidade Estadual da Paraíba, Campina Grande, PB, 2011.

ARAÚJO, T. S.; LIMA, T. A.R. M.; VALÉRIO, E. M. G. Estudo Espectroscópico de Fe³⁺ em Hidroxiapatita para Aplicações como Filtros Solares. **Scientia Plena.**, v.3, n. 7, p. 285-291, 2007.

ARAÚJO, T.S.; SOUZA, S.O. Protetores solares e os efeitos da radiação ultravioleta. **Scientia Plena.**, v. 4, n.11, p. 114, 2008.

BABY, A.R.; LACERDA, A. C. L.; VELASCO, M. V. R.; LOPES, P.S.; KAWANO, Y.; KANEKO, T.M. Evaluation of the interaction of surfactants with stratum corneum model membrane from *Bothrops jararaca* by DSC. **International Journal of Pharmaceutics.**, v. 317, p.7-9, 2006.

BATISTA, T. S. A. **Desenvolvimento de nanomateriais absorvedores no ultravioleta para aplicação em filtros solares.** 111f. Tese (Doutorado em Física) – Setor de Física, Universidade Federal de Sergipe, São Cristóvão, 2010.

BALOGH, T. S.; VELASCO, M. V. R.; PEDRIALI, C. A.; KANEKO, T. M.; BABY, A. R. Proteção à radiação ultravioleta: recursos disponíveis na atualidade em fotoproteção. **An. Bras. Dermatol.**, v.86, n.4, 2011.

BAUMANN, L. **Cosmetic Dermatology Principles and Practice**, 2 ed. New York: McGraw-Hill Medical, p.273-278, 2009.

BORELLA, J. C.; RIBEIRO, N. S.; TEXEIRA, J. C. L.; CARVALHO, D. M. A. Avaliação da espalhabilidade e do teor de flavonoides em forma farmacêutica semissólida contendo extratos de *Calendula officinalis* L. (Asteraceae). **Revista de Ciências Farmacêuticas Básica e Aplicada**, v. 31, n. 2, p. 193-197, 2010.

BORGHETTI, G. S.; KNORST, M. T. Desenvolvimento e avaliação da estabilidade física de loções O/A contendo filtros solares. **Revista Brasileira de Ciências Farmacêuticas.**, v. 42, p. 531-537, 2006.

BRASIL. Ministério da Saúde. **Estimativa 2014:** incidência de câncer no Brasil. Rio de Janeiro: INCA, 2014.

_____. Agência Nacional de Vigilância Sanitária (Anvisa). **Guia de estabilidade de produtos cosméticos.** 1. ed. (Série Qualidade em cosméticos, 1), p. 52, 2004.

CASTELI, V. C.; MENDONÇA, C. C.; DE CAMPOS, M. A. L.; FERRARI, M.; MACHADO, S. R. P. Desenvolvimento e estudos de estabilidade preliminares de emulsões O/A contendo cetoconazol 2,0%. **Acta Scientiarum Health Sciences**, 30, p. 121-128, 2008.

CHORILLI, M.; CAMPOS, G. R.; BOLFARINI, P. M. L. Desenvolvimento e estudo a estabilidade físico-química de emulsões múltiplas a/o/a e o/a/o acrescidas de filtros químicos

e manteiga de karité. **Latin American Journal of Pharmacy.**, v. 28, p.936-940, 2009.

COSTA, A. C. F. M.; LIMA, M.G.; LIMA, L. H. M A.; CORDEIRO, V. V.; VIANA, K. M. S.; SOUZA, C. V.; LIRA, H. L. Hidroxiapatita: Obtenção, caracterização e aplicações. **Revista Eletrônica de Materiais e Processos.**, v, 43, p. 29-38, 2009.

EGITO, E. S. T.; SURMANN, L. L.; BARBOSA, L. M. Q.; SIQUEIRA, S. D. V. S.; SILVA, K. G. H.; OLIVEIRA, A. G. Potencialidades de veículos microemulsionados para fotoprotetores físicos. **Latin American Journal of Pharmacy.**, v. 28, n.1, p. 133-140, 2009.

FERRARI, M.; PIANOVSKI, A.R.; VILELA, A. F. G.; SILVA, A. A. S.; LIMA, C. G.; SILVA, K.K.; CARVALHO, V. F. M.; MUSIS, C. R.; MACHADO, S. R. P. Uso do óleo de pequi (*Caryocar brasiliense*) em emulsões cosméticas: desenvolvimento e avaliação da estabilidade física. **Revista Brasileira de Ciências Farmacêuticas.**, v. 44, n.2, p. 249-259, 2008.

FERREIRA, J. I. P. R. **Desenvolvimento nanotecnológico de dispositivos biomédicos e dermocosméticos.** Dissertação (Mestrado) – Universidade Fernando Pessoa – Faculdade de Ciências da Saúde, Porto, 2012.

FORIESTIER, S. Rationale for sunscreen development. **Journal Am Acad Dermatol.**, v. 58, n.5, p.133-138, 2008.

FRIEDRICH, M.; PRIMO, F. T.; FUNCK, J. A. B.; LAPORTA, L. V.; ALVES, M. P.; Bittencourt, C.F.; Escarrone, A. L. V. Avaliação da Estabilidade Físico-Química de Creme Não Iônico Inscrito no Formulário Nacional. **Latin American Journal of Pharmacy.**, v. 26 p. 558-562, 2007.

GARCIA, M. T. J; FRANGE, R. C. C. Desenvolvimento de emulsões óleo de oliva/ água: avaliação da estabilidade física. **Revista de Ciências Farmacêuticas Básica e Aplicada**, v. 30, n. 3, p.263-271, 2009.

GASPAR, M. C.; NAKAGAWA, J. Electrical conductivity test in peanut seeds. **Rev. bras. sementes.**, v. 27, n. 2, 2005.

GILBERT, L.; SAVARY, G.; GRISEL, M.; PICARD, C. **Rheological and textural characterization of cosmetic emulsions containing natural and synthetic polymers: relationships between both data.** Colloids and Surfaces A: Physicochemical and Engineering Aspects., v. 42, p. 150–163, 2013.

HU, F. Q.; YUAN, H.; ZHANG, H. H.; FANG, M. Preparation of solid lipid nanoparticles with clobetasol propionate by a novel solvent diffusion method in aqueous system and physicochemical characterization. **International Journal of Pharmaceutics.**, v. 239, n. 1–2, p. 121-128, 2002.

ISAAC, V. L. B.; CEFALI, L. C.; CHIARI, B. G.; OLIVEIRA, C. C. L. G.; SALGADO, H. R. N.; CORREA, M. A. Protocolo para ensaios físico-químicos de estabilidade de fitocosméticos. **Revista de Ciências Farmacêuticas Básica e Aplicada.**, v. 29, p. 81-96, 2008.

LACERDA, S. P. **Carreador lipídico nanoestruturado à base de cera de carnaúba: desenvolvimento, caracterização e uso na encapsulação de benzofenona-3.** Dissertação (Mestrado) – Ciências Farmacêuticas. Centro de Ciências da Saúde – UFPE. Recife, 2009.

LANGE, M. K.; HEBERLÉ, G.; MILÃO, D. Avaliação da estabilidade e atividade antioxidante de uma emulsão base não-iônica contendo resveratrol. **Brazilian Journal of Pharmaceutical Sciences.**, v. 45, n. 1. São Paulo, 2009.

LARENTES, I. A. Avaliação Preliminar da estabilidade de cremes fotoprotetores de farmácias magistrais. Monografia – Faculdade Integrada da Grande Fortaleza – FGF, Maringá, PR, 2009.

LEAL, L. B.; SOUSA, G. D.; SEIXAS, K. B.; DE SOUZA, P. H. N.; DE SANTANA, D. P. Determination of the critical hydrophile-lipophile balance of licuri oil from *Syagrus coronata*: application for topical emulsions and evaluation of its hydrating function. **Brazilian Journal of Pharmaceutical Sciences.**, v. 49, p. 167-173, 2013.

LIMA, G. C.; VILELA, A. F. G.; DA SILVA, A. A.; PIANNOVSKI, A. R.; SILVA, K. K.; CARVALHO, V. F. M.; DE MUSIS, C. R.; MACHADO, S. R. P.; FERRARI, M. Desenvolvimento e avaliação da estabilidade física de emulsões O/A contendo óleo de babaçu (*Orbignyaoleifera*). **Revista Brasileira de Ciências Farmacêuticas.**, v.89, n.3, p.239-245, 2008.

LIMA, T. A. M. R. **Propriedades estruturais e ópticas de nanomateriais biocompatíveis voltados para aplicação em filtros solares.** [Dissertação] – Mestrado em Física. Universidade Federal de Sergipe, São Cristóvão, p.126, 2010.

LIMA, A. D. **Obtenção e Caracterização de nanocarreadores lipídicos contendo hidroxiapatita funcionalizada como proposta de um novo sistema como ação fotoprotetora.** [Dissertação] – Mestrado em Biotecnologia em Recursos Naturais. Universidade Federal de Sergipe, São Cristóvão, p. 14- 15, 2012.

LOGARAJ, T. V.; BHATTACHARYA, S.; UDAYA SANKAR, K.; VENKATESWARAN, G. Rheological behaviour of emulsions of avocado and watermelon oils during storage. **Food Chem.**, v. 106, p. 937–943, 2008.

LOPES, F. M.; CRUZ, R. O.; BATISTA, K. A. Radiação ultravioleta e ativos utilizados nas formulações de protetores solares. **Red. de Revistas Científicas de América Latina**. Ensaios e Ciência: Ciências Biológicas, Agrárias e da Saúde., v. 16, n. 4, p. 183-199, 2012.

LORCA, B. S. S. **Desenvolvimento de formulação fotoprotetora contendo nanopartículas poliméricas com Filtro Solar**. Tese (Doutorado) - Universidade Federal do Rio de Janeiro, Rio de Janeiro, 2012.

LUSTOSA, A. K. M. F. **Avaliação do potencial farmacológico da manteiga de bacuri (Platoniainsignis Mart.) e de forma farmacêutica de uso tópico com ela desenvolvida**. Dissertação (Mestrado) - Universidade Federal do Piauí, Teresina, 2012.

MACHADO, S. R. P.; MENDONÇA, C.C.; SILVA, I.C.L.; RODRIGUES, K.A.; CAMPOS, M. A. L.; MEDEIROS, M. C. M.; CASTELI, V.C.; FERRARI, M., MUSIS, C. R. Emulsões O/A contendo Cetoconazol 2,0%: avaliação da estabilidade acelerada e estudos de liberação *in vitro*. **Revista de Ciências Farmacêuticas Básica e Aplicada.**, v. 30, n. 1, p. 35-46, 2009.

MANAIA, E. B. **Desenvolvimento de sistemas líquido-cristalinos multifuncionais contendo nanopartículas de TiO₂ para proteção solar e liberação controlada de terpinem-4-ol**. Dissertação (Mestrado) - Universidade Estadual Paulista Júlio de Mesquita Filho, Araraquara, SP, 2012.

MASMOUDI, H.; LE DRÉAU, Y.; Piccrelle, P.; Kister, J. The evaluation of cosmetic and pharmaceutical emulsions aging process using classical techniques and a new method: FTIR. **International Journal of Pharmaceutics.**, v. 289, p.117-131, 2005.

MORAIS, G. G. **Desenvolvimento e avaliação da estabilidade de emulsões O/A com cristais líquidos acrescidas de xantina para tratamento da hidrolipodistrofia ginóide (celulite)**. Dissertação (Mestrado) – Faculdade de Ciências Farmacêuticas de Ribeirão Preto, USP, 2006.

MORAES, J. D. D. **Desenvolvimento de cosmético contendo ácido alfa-lipóico para a prevenção de alterações da pele e do envelhecimento cutâneo**. Dissertação (Mestrado) – Universidade Estadual Paulista, UNESP, Araraquara, SP, 2011.

NIKOLIC, S.; KECK, C. M.; ANSELM, C.; MULLER, R. H.; Skin photoprotection improvement: Synergistic interaction between nanoparticles and organic UV filters. **International Journal of Pharmaceutics**., v. 414, p. 276- 284, 2011.

NUNES, T. A. **Recobrimento, Condicionamento, Secagem e Armazenamento de Sementes de Melancia**. Tese - (Doutor) submetida à coordenação do Curso de Pós-Graduação em Agronomia/ Fitotecnia, Universidade Federal do Ceará, Fortaleza, 2011.

OLIVEIRA, M. M. F. Radiação Ultravioleta/ Índice Ultravioleta e câncer de pele no Brasil: Condições ambientais e vulnerabilidades sociais. **Revista Brasileira de Climatologia**., v. 13, 2013.

PARDEIKE, J.; MULLER, R. H.; PETERSEN, R. D.; HOMMOSS, A.; Nanostructured lipid carriers (NLC) in cosmetic dermal products. **Advanced Drug Delivery Review**., 59, p. 522–530, 2007.

PIANOVSKI, A. R.; VILELA, A. F. G.; DA SILVA, A. A. S.; LIMA, C. G.; DA SILVA, K.K.; CARVALHO, V. F. M.; DE MUSIS, C. R.; MACHADO, S. R. P.; FERRARI, M. Uso do óleo de pequi (*Caryocar brasiliense*) em emulsões cosméticas: desenvolvimento e avaliação da estabilidade física. **Revista Brasileira de Ciências Farmacêuticas**., v. 44, p.251-259, 2008.

POLONINI, H. C.; RAPOSO, N. R. B.; BRANDÃO, M. A. F. Fotoprotetores naturais como instrumento de ação primária na prevenção de câncer de pele. **Revista de Atenção Primária à Saúde**, Juiz de Fora: UFJF., v. 14, n. 2, p. 216-223, 2011.

PRESTES, P. S.; RIGON, R. B.; CORREA, N. M. N.; LEONARDI, G. R. Avaliação da estabilidade físico-química de emulsão acrescida de uréia dispersada, ou não, em propilenoglicol. **Revista de Ciências Farmacêuticas Básica e Aplicada**., v. 30, p. 47-53, 2009.

RODRIGUES, L. M. **Desenvolvimento e estudo de estabilidade preliminar de emulsões óleo/água (O/A) a base de óleos vegetais para prevenção e/ou adjuvante no tratamento de úlceras por pressão**. Monografia de conclusão de curso - Universidade de Brasília, Faculdade de Ceilândia, Brasília, DF, 2013.

ROSSAN, M. R. **Preparação e Caracterização de Micro e Nanopartículas Lipídicas Sólidas para Aplicação em Cosméticos**. Dissertação (Mestrado) - Faculdade de Engenharia Química, Universidade Estadual de Campinas, São Paulo, 2011.

SALVIO, A. G.; SEGALLA, J. G. M.; NICOLINI, H. R. “Experiência de um ano de modelo

de programa de prevenção contínua do melanoma na cidade de Jaú – SP, Brasil”. **Anais Brasileiros de Dermatologia.**, v. 86, n. 4, p. 669-674, 2011.

SANTOS, F. K. dos. **Desenvolvimento e caracterização de carreadores lipídicos nanoestruturados contendo praziquantel.** Dissertação (Mestrado) – Faculdade de Ciências Farmacêuticas, Universidade Estadual Paulista, Araraquara, 2011.

SAVIAN, A. L.; VARELLA, F. T.; ATHAYDE, M. L.; SILVA, C. B. Desenvolvimento e avaliação preliminar da estabilidade de emulsão não-iônica O/A contendo óleo de café verde como potencializador de fator de proteção solar. **Revista Brasileira de Ciências Farmacêuticas.**, v. 91, n. 2, p.82-88, 2011.

SAVARY, G.; GILBERT, L.; GRISEL, M.; PICARD, C. Predicting sensory texture properties of cosmetic emulsions by physical measurements. **Chemometrics and Intelligent Laboratory Systems.**, v. 124, p. 21–31, 2013.

SERPONE, N.; DONDE, D.; ALBINE, A. Inorganic and organic filters: Their role and efficacy in sunscreens and suncare products. **Inorganica Chimica Acta.**, n. 360, p. 794-802, 2007.

SHI, L.; SHANB, J.; JUB, Y.; AIKENS, P.; PRUND'HOMME, ROBERT K. **Nanoparticles as delivery vehicles for sunscreen agents, Colloids and Surfaces A: Physicochemical and Engineering.**, v. 396, p. 122-129; 2012.

SILVA, A. P. T. **Biometria cutânea com formulações semissólidas contendo nanocápsulas de palmitato de ascorbila.** Dissertação (Mestrado) - Centro Universitário Franciscano-UNIFRA, Santa Maria, RS, 2012.

SILVA, D. G. **Desenvolvimento e avaliação in vitro de eficácia fotoprotetora de nanoemulsões contendo p-metoxicinamato de octila e benzofenona-3.** Dissertação (mestrado) - Faculdade de Ciências Farmacêuticas da Universidade de São Paulo. São Paulo, 2013.

SILVA, V. R. L. **Desenvolvimento de formulações cosméticas hidratantes e avaliação da eficácia por métodos biofísicos.** Dissertação (Doutorado) – Universidade de São Paulo, 2009.

SOUTO, E. B; SEVERINO, P; SANTANA, M.H.A; PINHO, S.C. **Nanopartículas de lípidios sólidos: métodos clássicos de produção laboratorial.** *Quím.Nova.*, v. 34, 2011.

SOUTO, E. B.; MULLER, R. H. Cosmetic features and applications of lipid nanoparticles(SLN, NLC), **Int. J. Cosmet.Sci.**, v. 30, p. 157–165, 2008.

TADROS, T. Application of rheology for assessment and prediction of the long-term physical stability of emulsions. **Advanced Colloid Interface Sci.**, p. 108–109; 227–258, 2004.

TAKAOKA, M. S.; BABY, A. R.; PRESTES, P. S.; PINTO, C. A. S. O.; SILVA, V.R.L.; VELASCO, M. V. R.; KAWANO, Y.; KANEKO, T. M. Avaliação da interação de compostos ativos hidratantes com modelo de biomembrana de *Crotalus durissus* por meio de calorimetria exploratória diferencial e espectroscopia RAMAN. **Revista de Ciências Farmacêuticas Básica e Aplicada.**, v. 31, p.53-58, 2010.

TOLOTTI, M. F. **Protetores Solares à base de filtros inorgânicos:** Desenvolvimento e caracterização. Dissertação (Mestrado) – Universidade Estadual do Centro Oeste em associação ampla com a Universidade Estadual de Ponta Grossa. Guarapuava, 2012.

TORRES, S. B.; DE MEDEIROS, M. A.; TOSTA, M. DA S.; Costa, G. M. de M. Electrical conductivity test in sesame seeds. **Rev. bras. Sementes.**, v.31, n.3, 2009.

ULLISCH, D. A. **A Fundamental Research of Growth, Metabolism and Product Formation of Tobacco Suspension Cells at Different Scales.** Dissertation - Faculty of Mechanical Engineering of RWTH - Aachen University. Aachen, 2012.

VELASCO, M. V. R.; MACIEL, C. P. M.; SARRUF, M. V. R. F. D.; PINTO, C. A. S. O. CONSIGLIERI, V. O.; KANEKO, T. M. BABY, A. R. Desenvolvimento e teste preliminar da estabilidade de formulações cosméticas acrescidas do extrato comercial de *Trichilia catinguá* Adr. Juss (e) *Ptychopetalum olacoides* Benth. **Revista de Ciências Farmacêuticas Básica e Aplicada.**, v.29, n.2, p.181-196, 2008.

VIANNA-FILHO, R. P. **Aplicação de polissacarídeos em emulsão cosmética:** Análises Reológicas. Dissertação (Mestrado) – Universidade Federal do Paraná, Curitiba, 2009.

VILLALOBOS-HERNANDEZ, J. R., MULLER-GOYMANN C. C. Novel nanoparticulate carrier system based on carnauba wax and decyl oleate for the dispersion of inorganic sunscreens in aqueous media. **European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics**, v. 60, p. 113-122, 2005.

_____. Sun protection enhancement of titanium dioxide crystals by the use of carnauba wax nanoparticles: The synergistic interaction between organic and inorganic sunscreens at nanoscale. **International Journal of Pharmaceutics**, v. 322, p. 161-170, 2006.